

ANALISIS TINGKAT KESERAGAMAN GENETIK ANGGREK *Vanda tricolor*
HASIL *SELFING* YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN VITRO*

TUGAS AKHIR SKRIPSI

Diajukan kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta
untuk Memenuhi Sebagai Prasayarat
guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains



Oleh
Tonny Haryo Wibisono
NIM 13308144002

PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA
2017

ANALISIS TINGKAT KESERAGAMAN GENETIK ANGGREK *Vanda tricolor* HASIL *SELFING* YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN VITRO*

Oleh
Tonny Haryo Wibisono
NIM 13308144002

ABSTRAK

Perbanyakan tanaman *Vanda tricolor* Lindl var. *suavis* sering dilakukan dengan penanaman biji dari buah yang dihasilkan melalui penyerbukan sendiri (*selfing*) secara *in vitro*. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui tingkat keseragaman genetik beberapa tanaman yang tumbuh dari biji-biji yang berasal dari buah yang sama yang dihasilkan melalui *selfing*.

Penelitian dilakukan dalam 3 tahap, yaitu: kultur *in vitro*, isolasi DNA tanaman, dan analisis keseragaman genetik tanaman dengan teknik *Random Amplification of Polymorphic DNA* (RAPD). Kultur *in vitro* dilakukan dengan memindahtanamkan (subkultur) tanaman yang sudah berumur 12 bulan setelah tanam (bst). Isolasi DNA dilakukan terhadap 7 tanaman yang sudah berumur 16 bst menggunakan metoda Castillo termodifikasi. RAPD selanjutnya dilakukan berdasar teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) menggunakan primer OPU 3 dan OPU 16. Elektroforegram hasil PCR kemudian diubah menjadi data biner dan dianalisis menggunakan software NTSYSpc versi 2.02.

Elektroforegram hasil isolasi DNA menunjukkan bahwa DNA berhasil diisolasi dengan kualitas yang baik (dengan tingkat kemurnian 1,7 – 2,3) dan kuantitas yang cukup tinggi (0,6 – 55 ng/μl). Hasil analisis keseragaman genetik terhadap 7 tanaman hasil *selfing* menunjukkan bahwa tingkat keseragaman genetik berkisar antara 0,4 – 0,8.

Kata kunci : *keseragaman genetik, anggrek, Vanda tricolor, selfing, kultur in vitro, RAPD*

ANALYSIS OF GENETIC UNIFORMITY OF *Vanda tricolor* RESULT OF SELFING THAT WAS GROWN IN VITRO

by:

Tonny Haryo Wibisono

13308144010

ABSTRACT

Propagation of *Vanda tricolor* Lindl var. *suavis* is often done by planting seeds from the fruit that was produced by self-pollination (selfing) in in-vitro culture. The purpose of this research is to know the level of genetic similarity of plants that was regenerated from the same fruit seeds produced by selfing.

The study was conducted in 3 stages; i.e. in-vitro culture, DNA isolation, and genetic similarity analysis with Random Amplification of Polymorphic DNA (RAPD) technique. In-vitro culture was done by subculturing the 12 months after planting (map) plants. DNA isolation was performed on 7 plants of 16 map plants using the modified Castillo method. RAPD was then performed based on Polymerase Chain Reaction (PCR) technique using OPU 3 and OPU 16 primers. The electroforegram of PCR result was then converted to binary data and analyzed using NTSYSpc software version 2.02.

Electrophoregram from DNA isolation showed that DNA was successfully isolated with good quality (with purity level 1,7 - 2,3) and high enough quantity (0,6 - 55 ng / μ l). Genetic similarity analysis showed that genetic similarity level of the 7 tested plants ranged between 0,4 - 0,8.

Keyword: *genetic uniformity, orchid, Vanda tricolor, selfing, in vitro culture, RAPD*

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Tonny Haryo Wibisono

NIM : 13308144002

Program Studi: Biologi

Judul TAS : Analisis Tingkat Keseragaman Genetik Anggrek *Vanda tricolor* Hasil *Selfing* yang Ditumbuhkan Secara *In Vitro*

menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar karya saya sendiri. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan yang telah lazim.



Yogyakarta, 16 Agustus 2017
Yang menyatakan,

Tonny Haryo Wibisono
NIM 13308144002

LEMBAR PERSETUJUAN

Tugas Akhir Sripsi dengan Judul

ANALISIS TINGKAT KESERAGAMAN GENETIK ANGGREK *Vanda tricolor* HASIL *SELFING* YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN VITRO*

Disusun oleh:

Tonny Haryo Wibisono
NIM 13308144002

telah memenuhi syarat dan disetujui oleh Dosen Pembimbing untuk dilaksanakan


Ujian Akhir Tugas Akhir Skripsi bagi yang bersangkutan.

Yogyakarta, 16 Agustus 2017

Pembimbing I,

Pembimbing II,


(Dr. Ixora Sartika Mercuriani)
NIP. 197309232005012 001


(Suratsih, M.Si)
NIP. 195911031986011 001

LEMBAR PENGESAHAN

Tugas Akhir Skripsi





ANALISIS TINGKAT KESERAGAMAN GENETIK ANGGREK *Vanda tricolor* HASIL *SELFING* YANG DITUMBUHKAN SECARA *IN VITRO*

Disusun oleh:

Tonny Haryo Wibisono
NIM 13308144002

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Tugas Akhir Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta
Pada tanggal 21 Agustus 2017

TIM PENGUJI

Nama/Jabatan	Tanda tangan	Tanggal
<u>Dr. Ixora Sartika Mercuriani</u> Ketua Penguji/Pembimbing I		11-9-2017
<u>Suratsih, M.Si</u> Sekretaris Penguji/Pembimbing II		5-9-2017
<u>Evy Yulianti, M.Sc</u> Penguji I (Utama)		5-9-2017
<u>Lili Sugiyarto, M. Si</u> Penguji II (Pendamping)		6-9-2017

Yogyakarta, 14 September 2017
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Yogyakarta
Dekan,



Dr. Hartono, M. Si
NIP. 19620329 1987021 002

Motto

Lakukan, lakukan, dan lakukan

Lalu rasakan prosesnya (Tony H.W)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan bangga dan bahagia, saya persembahkan karya ini untuk:

Kedua orang tua, Bapak Suharyono dan Ibu Sri Marwigati, Adik Risna Erdiani Widyastuti dan Nugroho Ahsan Pamungkas serta keluarga besar untuk kasih sayang, dukungan moral dan inspirasi kepada saya dalam menempuh pendidikan.

Sahabat-sahabat Ulfa, Bima, Desi, Endah, Vina, Ismi, Acima yang bersama-sama berjuang menyelesaikan skripsi.

Teman-teman Biologi E 13 untuk persahabatan dan kekeluargaan yang telah kebersamai perjalanan selama menempuh pendidikan di bangku kuliah.

KATA PENGANTAR

Puji syukur alhamdulillah penulis haturkan kepada Allah SWT, karena berkat kehendak-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Keseragaman Genetik Anggrek *Vanda tricolor* Hasil *Selfing* yang Ditumbuhkan Secara *In Vitro*”.

Dalam proses penyelesaian skripsi ini, penulis memperoleh banyak bantuan serta bimbingan dari berbagai pihak sehingga penyusunan skripsi ini dapat berjalan dengan lancar. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada :

1. Dr. Hartono, M.Si., selaku Dekan FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberikan izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
2. Dr. Slamet Suyanto, M.Ed., selaku Wakil Dekan I yang telah memberikan izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
3. Dr. Paidi, M.Si, selaku Ketua Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberikan izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
4. Dr. Tien Aminatun, selaku Ketua Program Studi Biologi Universitas Negeri Yogyakarta yang telah memberika izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
5. Dr. Ixora Sartika Mercuriani sebagai Dosen Pembimbing I yang telah memberikan kesempatan untuk melaksanakan tugas akhir skripsi dan memberikan pengarahan, bimbingan serta dukungan dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi.

6. Suratsih, M.Si sebagai Dosen Pembimbing II yang telah memberikan pengarahan, bimbingan serta dukungan dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi.
7. Sukiya, M.Si selaku Pembimbing Akademik yang memberikan bimbingan selama kuliah dan memberikan izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
8. Ir. Dwijo Priyanto BS. MMA, selaku Kepala UPTD BPTPB Cangkringan yang telah memberikan izin pelaksanaan tugas akhir skripsi.
9. Astuti, SP selaku kepala Laboratorium Kesling BPTPB yang telah memberikan izin, kemudahan dan dorongan sehingga tugas akhir skripsi ini dapat terlaksana dan selesai dengan baik.
10. Seluruh staf Laboratorium Kesling Ikan dan Kultur Pakan Alami yang telah membantu pelaksanaan dan memberikan dukungan serta semangat.
11. Staf dan laboran di Laboratorium Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY yang telah memberikan ijin dan bantuan selama kegiatan penelitian berlangsung.
12. Orangtuaku tercinta serta adik-adikku yang senantiasa memberikan dukungan, kasih sayang dan do'a yang selalu mengiringi
13. Sahabat-sahabat generasi 94 dan piknik yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
14. Keluarga Biologi E 2013 yang telah memberikan dukungan dan bantuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
15. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Kultur Jaringan Afrizal, Meri, Ika, Wulan yang telah membantu selama penelitian.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan yang terapat dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu penulis meminta maaf kepada semua pihak yang merasa kurang berkenan akan skripsi ini. Kiranya skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang membacanya. Terima kasih banyak.

Yogyakarta, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Abstrak	ii
Abstract.....	iii
Surat Pernyataan	iv
Lembar Persetujuan	v
Lembar Pengesahan	vi
Motto	vii
Halaman Persembahan	viii
Kata Pengantar	ix
Daftar Isi.....	xii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Tabel	xv
Daftar Lampiran.....	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Identifikasi Masalah	4
C. Batasan Masalah	5
D. Rumusan Masalah	5
E. Tujuan Penelitian	5
F. Manfaat.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 6
A. KAJIAN PUSTAKA	6
1. <i>Vanda tricolor</i>	6
2. Keanekaragaman Genetik	8
3. Kultur <i>In Vitro</i>	9
4. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i>	11
a. Komponen PCR	11
b. Proses PCR.....	13
c. Optimasi PCR	14
5. Penanda Molekuler <i>Random Amplified Polymorphic DNA</i> (RAPD)	17
B. Kerangka Pikir	20
 BAB III METODE PENELITIAN.....	 21
A. Jenis Penelitian	21
B. Waktu dan Tempat.....	21
C. Populasi dan Sampel Peneltian.....	21
1. Populasi.....	21
2. Sampel	22
D. Alat dan Bahan Penelitian	22

1. Bahan.....	22
2. Alat.....	23
E. Langkah Kerja Penelitian.....	23
1. Kultur <i>In Vitro</i>	23
a. Pembuatan Media Subkultur.....	24
b. Subkultur.....	24
c. Inkubasi.....	25
2. Isolasi DNA.....	25
3. Analisis Hasil Isolasi DNA.....	26
a. Analisis Kualitas DNA.....	26
b. Analisis Kuantitas DNA.....	27
4. RAPD-PCR DNA.....	27
5. Elektroforesis Hasil Amplifikasi.....	28
6. Analisis RAPD.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
A. Kultur <i>In Vitro</i>	30
B. Isolasi DNA.....	31
C. Identifikasi Molekuler dengan RAPD.....	36
D. Analisis Keseragaman Genetik.....	38
BAB V KESIMPULAN	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi tanaman <i>Vanda tricolor</i> Lindl. var. <i>suavis</i> forma Merapi	7
Gambar 2. Bagan kerangka pikir penelitian.....	20
Gambar 3. Tanaman anggrek umur 12 bulan sesudah tanam (bst)	25
Gambar 4. Tanaman anggrek <i>V. tricolor</i> umur 12 bst dan 16 bst.....	31
Gambar 5. Elektroforegram hasil isolasi DNA tanaman anggrek <i>V.</i> <i>tricolor in vitro</i> ke-1 sampai ke-7 (C1-C7)	32
Gambar 6. Elektroforegram hasil amplifikasi DNA menggunakan primer OPU 03 (a) dan OPU 16 (b).....	37
Gambar 7. Dendogram tujuh tanaman anggrek <i>V. tricolor</i> yang ditanam secara <i>in vitro</i> dan tiga tanaman anggrek <i>V.</i> <i>tricolor</i> yang ditanam secara <i>in vivo</i>	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Konsentrasi DNA hasil isolasi dari tanaman C1-C7.....	33
Tabel 2. Hasil pengukuran bobot tanaman.....	34
Tabel 3. Tingkat kemurnian DNA hasil isolasi berkisar antara 1,7- 2,3.....	35

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Koefisien persamaan genetik anggrek <i>Vanda tricolor</i> yang ditanam secara <i>in vitro</i> (C1-C7) dan secara <i>in vivo</i> (V1-V3).....	46
Lampiran 2. Tanaman anggrek <i>V. tricolor</i> umur 12 bst	47
Lampiran 3. Diagram representatif elektroforegram hasil amplifikasi dengan primer OPU-03 dan OPU-16.....	48
Lampiran 4. Kultur <i>in vitro</i> anggrek <i>V. tricolor</i> yang terkontaminasi jamur.....	49
Lampiran 5. Interpretasi Pola Pita DNA (OPU-03)	50
Lampiran 6. Interpretasi Pola Pita DNA (OPU-16)	51